

## Flow Injection Analysis(FIA)를 이용한 수질오염측정에 관한 연구

이재성\*<sup>†</sup> · 김영승 · 정민우\* · 이희정\*\* · 이 원

\*한국과학기술연구원 수질환경연구센터, 경희대학교 문리과대학 화학과,

\*\*한국과학기술연구원 환경복원센터

## A Study on the Determination of Water Pollution by Flow Injection Analysis(FIA)

Jae-Seong Rhee\*<sup>†</sup>, Young-Seung Kim, Min-Woo Jung\*, Hee-Jung Rhee\*\* and Won Lee

*\*Water Environmental Research Center, KIST*

Sungbuk-gu Hawulgok-dong, Seoul 136-791, Korea

*Department of Chemistry, Kyung Hee University*

Dongdaemun-gu Hoegi-dong 1, Seoul 130-701, Korea

*\*\*Environmental Remediation Center, KIST*

Sungbuk-gu Hawulgok-dong, Seoul 136-791, Korea

The contents of nitrogen as nitrate, nitrite and ammonia would be one of major factors affecting eutrophication around surface or sea water in our ecosystem. For the purpose of rapid monitoring of nitrate, nitrite and ammonia, lab-made flow injection analysis(FIA) system was introduced. Furthermore, its applicability for environmental samples from stream or river water samples was demonstrated. These fast data output were taken advantage of drawing pollutant distribution map at specific site within short time. The detection limits for nitrogen as nitrate, nitrite and ammonia with economic lab-made FIA system were achieved as 0.4  $\mu$ g/mL, 0.1  $\mu$ g/mL and 0.3  $\mu$ g/mL, respectively.

**Key word :** Flow Injection Analysis (FIA), Nitrogen as nitrate, nitrogen as nitrite, nitrogen as ammonia pollutant distribution map

### 1. 서 론

산업의 급속한 발전에 따른 산업폐수, 생활하수 등에서 배출되는 각종 오염물에 의해 환경오염이 심각해지고 있는 추세이다. 환경오염물질 중에는 인체에 유해한 영향을 미치는 독성 또는 발암성물질이 많으므로 이들을 신속하고 정확하게 분석하는 것은 매우 중요하다. 흐름주입분석법(Flow Injection Analysis)은 1975년 Ruzicka와 Hansen<sup>1</sup>에 의해 처음으로 정의된 이후 현재 까지 급속하게 발전되고 있는 방법<sup>2-3</sup>으로 다양한 시료를 신속, 정확하게 연속적으로 분석할 수 있는 방법이다. 본 연구에서는 여러 가지 환경오염정도의 척도 중에서 부영양화의 원인이 되는 질소를 선택하고 이중 아질산

성 질소, 질산성 질소 그리고 암모니아성 질소를 분석할 수 있는 FIA 장치를 제작하여 자동분석이 가능하도록 하였다. 질소성분은 위생상 유해한 것은 아니지만 환경오염의 척도로서는 의의가 크며 자연계에서 여러 성분으로 순환되면서 존재한다.

1967년 Kamphake등<sup>4</sup>에 의해 연속적으로 질산성 질소와 아질산성 질소를 분석할 수 있는 장치에 대해 연구되었으나 정확도와 감도면에서 신뢰성이 부족하였다. 아질산성 질소를 정량하는 방법으로는 Griess-Ilosvay반응<sup>5-9</sup>이 많이 이용된다. 이 방법은 nitrite가 sulfanilamide와 반응하여 diazonium salt를 형성한 후 N-(1-naphthylethylenediaminedihydrochloride) (NED)와 azo coupling 반응을 일으킴으로써 형성되는 azo dye를 540 nm에서 검출하는 방법이다.

최근 coupling reagent로써 NED를 사용하지 않고 dibenzoyl methane을 사용한 방법이 보고<sup>10</sup>되었으나 반응단계가 복잡하고 FIA방법에 활용하기가 어렵기 때문에 일반적이지 못하다. 질산성 질소를 분광분석법으로 정량하는 방법은 직접 nitrate를 정량하는 방법과 환원에 의해 간접적으로 정량하는 방법으로 나눌 수 있다. 첫 번째 방법은 자외선 영역인 220nm에서 측정하는 방법으로 아질산 및 유기화합물의 방해받을 수 있기 때문에 sulfamic acid로 nitrite의 방해효과를 제거하고 nitrate가 흡수되지 않는 275nm에서 흡광도를 측정하여 유기화합물에 의한 영향을 보정해 주어야 한다. 두 번째 방법은 nitrate를 brucine과 반응시켜 생성되는 황색화합물을 410nm에서 측정하는 방법이다. 그러나 brucine은 독성이 강하고 온도를 100°C까지 올려주어야 하기 때문에 FIA방법에 적용시키기 어렵다. 두 번째 방법은  $TiCl_3$ <sup>11</sup>, hydrazine (II) sulfate<sup>12-13</sup> 등을 이용한 균일성 환원방법과 Zinc (II)<sup>14</sup>, Copperized-Cd<sup>15-16</sup> 컬럼등을 이용한 불균일성 환원방법이 있다. Cu-Cd 컬럼을 사용할 경우 환원율은 좋으나 Cd의 처리문제와 독성폐수가 발생하므로 세심한 주의를 요하며 15-20회 정도 사용하면 환원능력이 저하되므로 활성화용액을 흘려주어야 하는 번거로움이 있다. 암모니아성 질소를 정량하는 방법으로는 Indophenol법이 많이 사용되는데 이 방법은 hyperchlorite의 존재 하에서 sodium phenol nitroprusside와 반응하여 생성되는 indophenol을 640 nm에서 측정하는 방법이다<sup>17</sup>. 이 방법은 Nessler법<sup>18</sup>보다는 감도가 우수하나 반응이 완결되려면 30분 이상의 시간이 소요되며 pH에 따라 파장이 변할 수 있다는 단점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 indophenol법에 비해 검출한계는 높지만 반응이 빠르고 FIA방법에 응용하기 편리한 Nessler방법을 선택하였다. 지금까지의 많은 연구결과로 인해 현재 분석 대상물질이 식물, 토양, 슬러리, 음식물 등에 까지 확대되고 있다. 또한 FIA 방법에 의한 시료의 농축, 회수 및 분리도 유망한 분야이다.

본 연구는 아질산성 질소, 질산성 질소 및 암모니아성 질소를 측정하는데 있어 환원제, 촉매, 방해이온 제거제, 알칼리 농도 등에 대한 최적조건을

설정하여 수질오염성분 측정 및 자동화가 가능한 FIA 시스템을 구축하고 이를 바탕으로 오염현황을 지도로 작성하여 환경오염상태를 monitoring 할 수 있도록 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시 약

실험에 사용된 모든 시약들은 특급 또는 1급 시약으로 정제하지 않고 사용하였으며 물은 1차 증류 후 이온교환수지를 통과시킨 것을 사용하였다.  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$  표준용액은 모두 일본 Kanto사의 sodium nitrite, sodium nitrate, ammonium chloride를 각각 1000ppm이 되도록 탈염수에 녹여 상온에서 보관하면서 필요한 농도로 묽혀 사용하였다.

### 2.2. 기기 및 장치

FIA시스템은 미국 CONTEC사의 IPC-PT/M300 컴퓨터에 의해 제어되었고 검출기는 미국 Applied Biosystems사의 757 Absorbance Detector (190-800nm)를 사용하였으며 적분계는 영인과학(주)의 model D520B integrator를 사용하였다. 시료용액을 이동시키기 위해 프랑스 Gilson사의 Minipuls 3 peristaltic pump를 사용하였고 반응코일은 Upchurch사의 Teflon tubing을 사용하였다.

### 2.3. FIA 시스템 조건

시료 주입량, 시약·시료의 유속 및 반응코일의 길이를 결정하기 위해 nitrite 표준용액을 사용하여 각각의 조건변화에 대한 흡광도의 변화를 면적비로 측정하였다. 반응코일은 플라스틱 막대에 tubing을 나선형으로 감아 사용하였고 nitrate 환원반응에 이용된 항온조의 온도는 45°C로 유지시켰다. 또한 nitrate의 환원효율을 증가시키기 위해 UV 검출기 내에 reaction coil을 넣어 만든 장치를 제작하여 사용하였다. (Fig. 1)

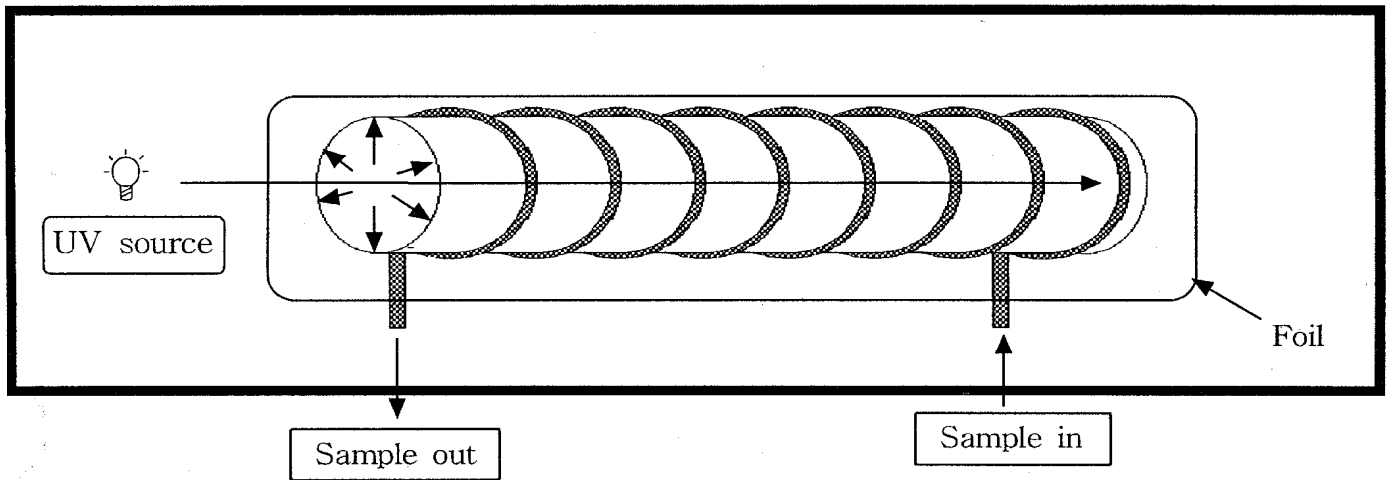


Fig. 1. The tool for increasing the efficiency of reduction.

#### 2.4. 환원용액의 농도결정

환원용액은 hydrazine sulfate, copper sulfate, zinc sulfate 및 sodium hydroxide를 포함하며 시약의 과량 사용억제와 효율적인 농도를 선택하기 위해 각 시약의 농도변화가 환원율에 미치는 영향을 검토하였다.

#### 2.5. 측정방법

아질산, 질산 및 암모니아성 질소의 측정을 위한 FIA 시스템의 구조를 Fig. 2에 나타내었고 모든 수질시료는 전처리 없이 그대로 사용하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. FIA 시스템 조건 결정

시료 주입량, 유속, 반응코일의 길이 등은 FIA 방법에 있어 매우 중요한 인자들이다. 각 인자들에 대한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. A에서 보는바와 같이 유속이 증가함에 따라 반응정도가 낮아져 상대적 세기가 감소함을 알 수 있으나 유속을 지나치게 감소시킬 경우 봉우리 폭의 증가로 인해 정확도가 낮아지게 되며 분석시간이 증가하므로 정

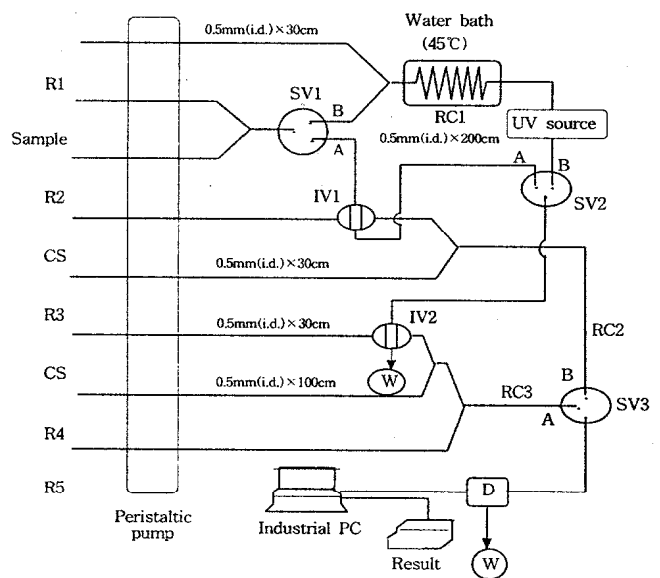


Fig. 2. Schematic diagram of FIA system for the determination of nitrite, nitrate and ammonia-nitrogen. R1: reduction solution, R2: sodium hydroxide, R3: Nessler reagent, R4: sulfanilamide, R5: N-(1-naphthylethylenediamine dihydrochloride); SV1, SV2, SV3: selection valves; IV1, IV2: injection valves; RC1: reaction coil of reduction from nitrate to nitrite, RC2: reaction coil of ammonium with Nessler reagent, RC3: reaction coil of nitrite with N-(1-naphthylethylenediamine dihydrochloride); CS: carrier solution(deionized water); D: detector; W: waste.

확성 및 효율성을 고려하여 유속은 1.46 mL/min. 로 결정하였다. 또한 반응코일의 길이에 따른 변화 (B)를 살펴보면, 200cm 이상에서 상대적 세기가 변하지 않는 것으로 보아 반응이 완결되었음을 알 수 있었고 따라서 코일의 길이는 200cm로 결정하였다. 암모니아성 질소의 경우만 150cm로 하였다. 시료 주입량의 영향(C)을 살펴보면, 양이 증가할수록 상대적 세기가 증가하였으나 주입의 정확도와 피크 넓어짐 현상을 막기 위해 주입량은 50 μL로 결정하였다.

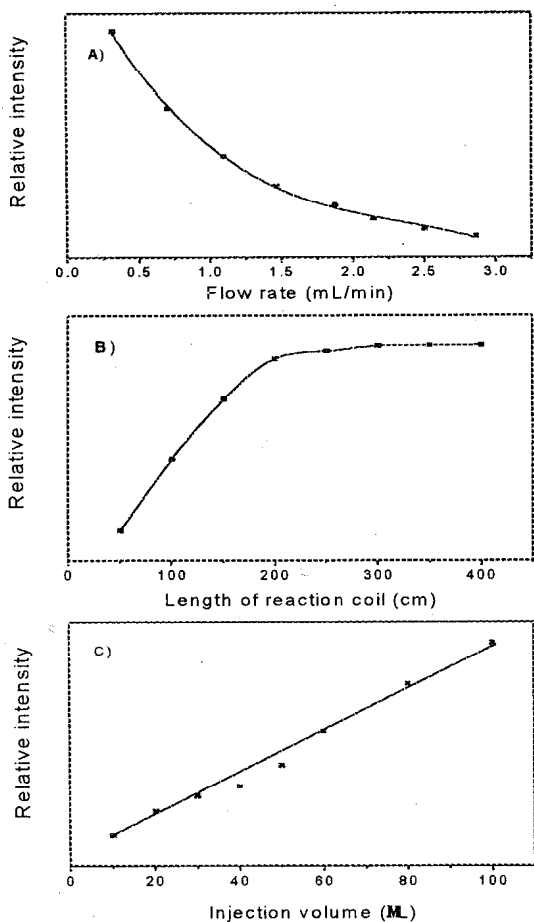


Fig. 3. Determination of optimum factors for FIA. Experimental condition; A) reaction coil: 100cm, injection volume: 50 μL, B) flow rate: 1.46mL/min, injection volume: 50 μL, C) reaction coil: 100cm, flow rate: 1.46mL/min.

### 3.2. 아질산성 질소의 측정

아질산성 질소의 정량은 서론에서 언급했던 Griess-Ilosvay 반응에 의해 수행하였고 이 반응의 메카니즘을 Fig. 4에 나타내었다. 시료가 SV1의 경로A를 통해 IV1에서 주입되고 SV2의 A경로를 지나 pH 2.0-2.5의 산성용액 상태에서 sulfanilamide (A)와 반응하여 diazonium salt(B)를 형성한 후 NED(C)와의 diazonium coupling반응을 통해 형성된 azo dye(D)를 540nm에서 측정하게 된다.

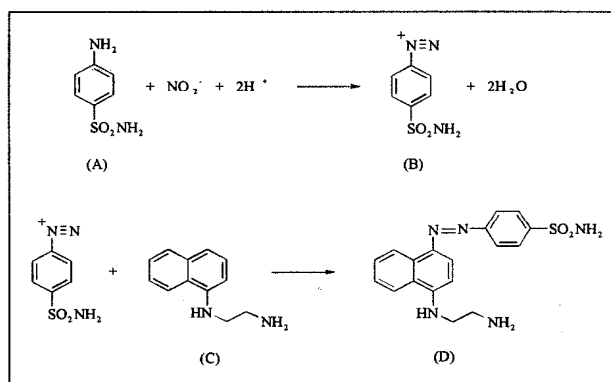


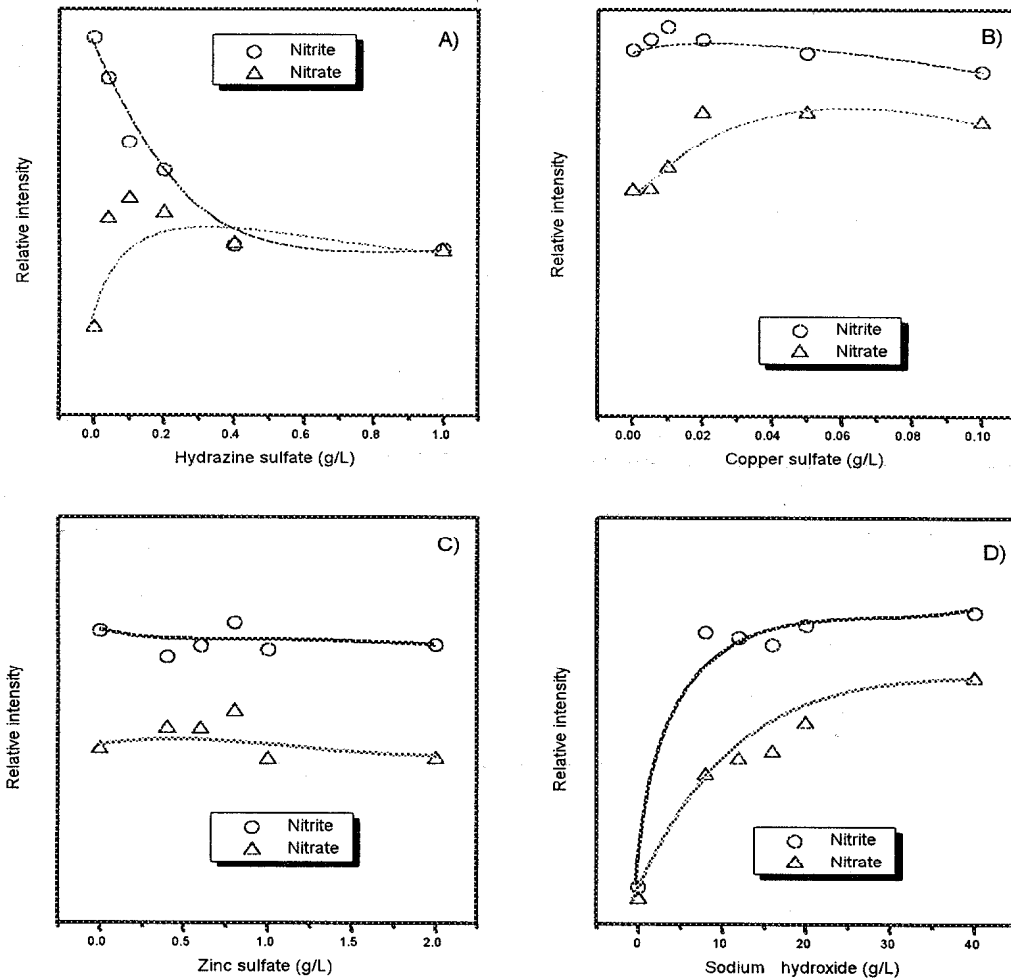
Fig. 4. The Griess-Ilosvay reaction.

### 3.3. 질산성 질소의 측정

질산성 질소는 nitrate를 hydrazine(II) 용액을 사용하여 nitrite로 환원시킨 후 Griess-Ilosvay 반응에 의해 측정하였다. 시료는 SV1의 경로B를 지나 항온조 속의 RC1에서 환원용액과 반응하여 UV lamp를 통과한 후 nitrite로 환원된다. 이때 시료의 농도는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$C_{nitrate} = C_{total\ nitrite} - C_{nitrite}$$

$C_{nitrate}$ 는 환원된 상태에서의 질산성 질소의 농도를 나타내고,  $C_{total\ nitrite}$ 는 환원된 상태에서의 아질산성 질소의 총농도를 나타내며,  $C_{nitrite}$ 는 환원되지 않은 상태에서의 아질산성 질소만의 농도를 나타낸다. 환원용액의 농도를 결정하기 위해 용액을 이루고 있는 각 시약의 농도를 변화시키면서 흡광도를 측정하였으며 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다.



**Fig. 5.** Effect of reducing reagent containing A) hydrazine sulfate, B) copper sulfate, C) zinc sulfate, D) sodium hydroxide on the absorbance of (○) nitrite and (△) nitrate reduced to nitrite. All measurements were calculated based on the area of nitrite  $4.13 \mu\text{g/mL}$  and nitrate  $3.34 \mu\text{g/mL}$ .

환원율이 최대가 되는 농도는 각각 hydrazine(II)  $0.2\text{g/L}$ ,  $\text{Cu(II)}$   $0.05 \text{g/L}$ ,  $\text{Zn(II)}$   $0.2\text{g/L}$ ,  $\text{NaOH}$   $40 \text{g/L}$ 였다.

### 3.4. 암모니아성 질소의 측정

암모니아성 질소는 시료를 알칼리 상태로 만든 후 Nessler법을 이용하여 측정하였다. 시료는 SV1의 경로A를 통과하여 IV1에서 주입되고 RC2에서 Nessler시약과 반응한 후 SV3의 경로B를 지나  $440\text{nm}$ 에서 검출된다.

### 3.5. 표준용액의 검량선과 실제시료의 분석

환원용액을 사용하지 않은 비환원상태에서의 아질산성 질소표준용액, 환원용액을 사용한 환원상태에서의 아질산성 질소표준용액, 환원상태에서의 질산성 질소표준용액, 암모니아성 질소표준용액에 대한 크로마토그램을 Fig. 6에 나타내었다. B의 경우 A에 비해 1/2정도의 세기를 나타내므로 앞 절(3.3)의 식을 유도할 수 있다. 질산성 질소성분을 측정하기 위해 아질산성 질소로 환원하여 정량하는 방법을 이용한 본 연구에서, 실제시료에는 질산성 질

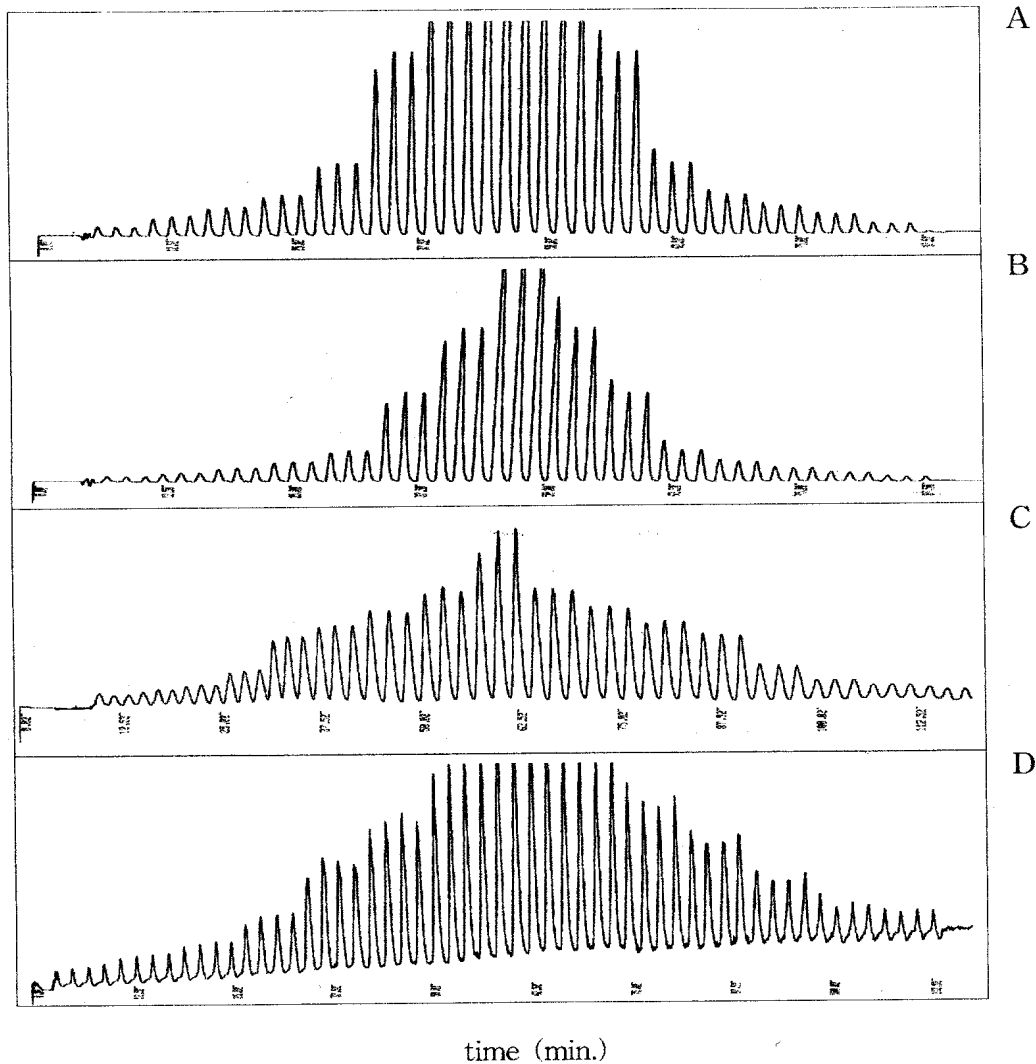


Fig. 6. Chromatograms of standard solution by FIA. (A) nitrite-nitrogen (non-reductive) (B) nitrite-nitrogen (reductive) (C) nitrate-nitrogen (reductive) (D) ammonium-nitrogen.

소뿐만 아니라 아질산성 질소성분도 존재하므로 환원상태에서의 아질산성 질소성분의 양을 고려하여야 한다. 각각에 대한 검량선을 Fig. 7에 나타내었는데 상관계수( $R^2$ )값이 모두 0.99이상의 좋은 값을 나타내었다. 이들 검량선을 바탕으로 하천에서 채취한 14개의 시료에 대해 각각의 성분을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다.

### 3.6. 오염현황지도 작성

Table 1에서 보는 바와 같이 각각의 성분 중에

암모니아성 질소의 농도가 가장 높은 측정값을 나타냄을 알 수 있었다. 이것은 물 속에 존재하는 무기질소가 시간이 지남에 따라 암모니아성 질소, 아질산성 질소, 질산성 질소의 순으로 오염이 증가한다는 것과 비교해 볼 때 채취한 시료 주변의 하천은 최근에 오염이 빠른 속도로 진행되었음을 알 수 있었다. Table 1의 질소성분에 대한 측정값을 바탕으로 하여 암모니아성 질소, 아질산성 질소, 질산성 질소성분에 대한 오염현황을 각각 지도로 작성하여 Fig. 8 과 Fig. 9 그리고 Fig. 10에 나타내었다.

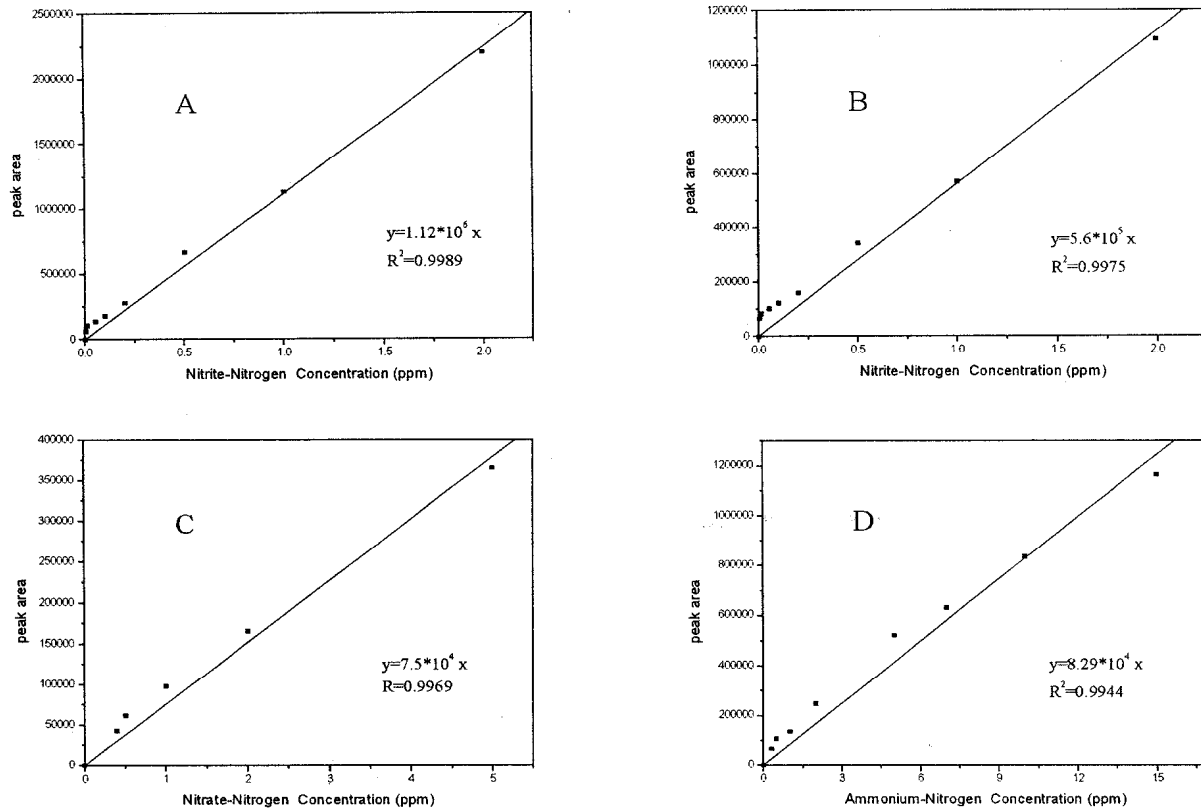


Fig. 7. Calibration curves of standard solution by FIA (through zero point).  
 (A) nitrite-nitrogen (non-reductive) (B) nitrite-nitrogen (reductive)  
 (C) nitrate-nitrogen (reductive) (D) ammonium-nitrogen

Table 1. Determination of Ammonium-Nitrogen, Nitrite-Nitrogen and Nitrate-Nitrogen in Wastewater.  
 (unit: mg/L)

Number of Samples	$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	$\text{NO}_2^- \text{-N}$	$\text{NO}_3^- \text{-N}$
S1	7.30	0.35	3.15
S2	6.25	0.36	3.62
S3	6.13	0.36	3.72
S4	6.09	0.36	3.89
S5	5.90	0.35	3.95
S6	11.01	0.44	5.59
S7	11.51	0.45	6.05
S8	11.15	0.46	6.12
S9	8.55	0.28	3.45
S10	8.89	0.19	2.33
S11	8.80	0.22	3.15
S12	9.82	0.23	2.88
S13	10.55	0.22	2.37
S14	11.98	0.43	6.52

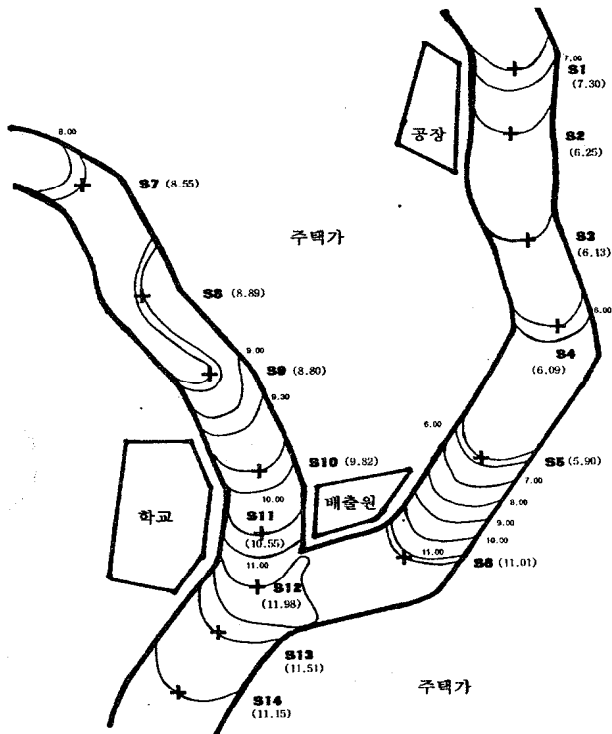


Fig. 8. Contour map for the contents of ammonia-nitrogen( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) in environmental water.

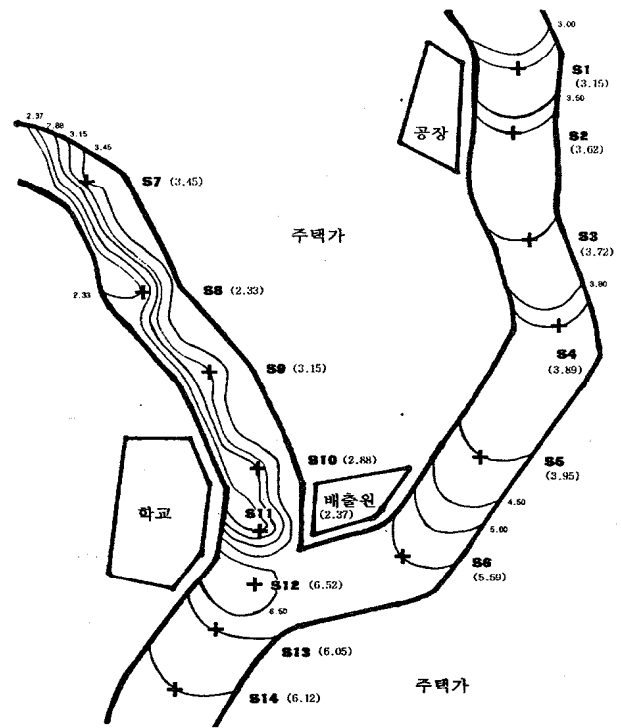


Fig. 10. Contour map for the contents of nitrate-nitrogen( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) in environmental water.

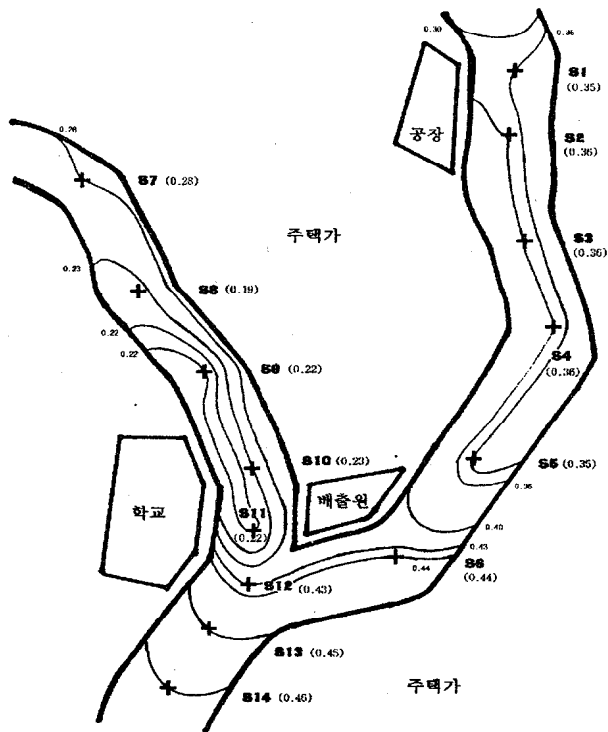


Fig. 9. Contour map for the contents of nitrite-nitrogen( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ) in environmental water.

#### 4. 결론

본 연구에서는 아질산성 질소, 질산성 질소, 암모니아성 질소를 연속적으로 측정할 수 있는 FIA 시스템을 개발하여 여러 환경시료를 측정하고 이를 지도로 작성하여 오염상태를 평가하였다.

1. 환경시료 중 질소성분 측정을 위해 제작된 FIA 시스템의 최적조건은 시료 주입량  $50\mu\text{L}$ , 유속  $1.46\text{mL}/\text{min}$ , 반응코일의 길이  $200\text{cm}$ (암모니아성 질소의 경우  $150\text{cm}$ ) 였다.

2. Flow-Injection Analysis(FIA) system으로 아질산성 질소, 질산성 질소, 암모니아성 질소성분을 표준용액으로부터 정량한 결과, 각각의 검출한계(detection limits)는  $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $0.4\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $0.3\mu\text{g}/\text{mL}$  임을 확인할 수 있었다.

3. 수계에 존재하는 무기질소(inorganic nitrogen)는 암모니아성 질소, 아질산성 질소, 질산성 질소성분의 순으로 오염이 증가하므로 실제 환경오염시료를 분석한 결과, 채취한 모든 시료에서 질산성

질소의 농도에 비해 암모니아성 질소의 농도가 더 높은 것으로 보아 채취한 시료는 최근에 오염이 급속히 진행되었음을 알 수 있었다.

4. Flow-Injection Analysis(FIA) system에 의한 질소성분의 분석을 바탕으로 오염현황을 지도로 작성하여 환경오염상태를 모니터링할 수 있음을 확인할 수 있었다.

#### 참고문헌

1. J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1975**, 78, 145.
2. L. R. Snyder, "Continuous-flow analysis: present and future", *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 3.
3. D. Betteridge, "Flow injection analysis", *Anal. Chem.* **1978**, 50, 832A.
4. L. J. Kamphake, S. A. Hannah and J. M. Cohen, *Water Res.* **1967**, 1, 205.
5. M. J. Fishman, M. W. Skougstad and G. F. Scarbro Jr. *J. Am. Water Works Assoc.* **1964**, 633.
6. M. F. Gine, F. H. Bergamin, E. A. G. Zagatto and B. F. Reis, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 191.
7. F. Jacobus and S. Van, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 138, 403.
8. D. Anne, B. Dominique, L. Michel and P. Jacques, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 413.
9. R. C. Schothorst and G. Den Boef, *Anal. Chim. Acta*, **1985**, 175, 305.
10. K. Shanthi and N. Balasubramanian, *J. AOAC Int.* **1994**, 77, 1639.
11. A. Al-Wehaid and T. Alan, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 186, 289.
12. B. C. Madesen, *Anal. Chim. Acta*, **1981**, 124, 437.
13. M. T. Oms, A. Cerda, V. Cerda, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 315, 321.
14. G. P. Edwards, J. R. Pfafflin, L. H. Schwartz and P. M. Lauren, *J. Am. Water Works Assoc.* **1962**, 34, 1112.
15. A. Cerda, M. T. Oms, R. Forteza and V. Cerda, *Analyst*, **1996**, 121, 13.
16. T. K. Hartz, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1994**, 25, 511.
17. D. A. Tel and C. Heseltine, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1990**, 21, 1681.
18. D. S. Foster, "Photometric and Fluorometric Method of Analysis (non metals)", 1981, pp 544-633, John Wiley & Sons Press, U.S.A.